Münster 1937 No 90 Med DiSS

Aus dem anatomischen und dem physiologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster in Westfalen
(Direktor Professor Dr. Heiderich und Direktor Professor Dr. Rosemann).

Der Glykogengehalt der Muskulatur und des Erregungsleitungssystems des Säugetier- und menschlichen Herzens auf Grund chemischer und histologischer Untersuchungen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster in Westfalen

vorgelegt von

Max Lasthaus
aus Sendenhorst

Dissertations-Druckerei Heinr. & J. Lechte, Emsdetten (Westf.)

1937

Aus dem anatomischen und dem physiologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster in Westfalen
(Direktor Professor Dr. Heiderich und Direktor Professor Dr. Rosemann).

Der Glykogengehalt der Muskulatur und des Erregungsleitungssystems des Säugetier- und menschlichen Herzens auf Grund chemischer und histologischer Untersuchungen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster in Westfalen

vorgelegt von

Max Lasthaus
aus Sendenhorst

Dissertations-Druckerei Heinr. & J. Lechte, Emsdetten (Westf.)

1937

Dekan: Professor Dr. Jötten
Referent: Professor Dr. Heiderich

Meiner lieben Mutter.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547223_0040

Der Glykogengehalt der Muskulatur und des Erregungsleitungssystems des Säugetier- und menschlichen Herzens auf Grund chemischer und histologischer Untersuchungen.

Den Anlaß zu den folgenden Untersuchungen gab eine Arbeit von Buadze und Wertheimer, in der dieselben erstmalig versuchten, das Glykogen im Erregungsleitungssystem (E.L.S.) chemisch zu erfassen, um es quantitativ mit dem des Herzmuskels zu vergleichen. Sie fanden dabei im Herzmuskel durchschnittlich 7 mal mehr Glykogen als im E.L.S., Ergebnisse, die im völligen Widerspruch stehen zu denen der Histologen, die mit Hilfe der Färbemethoden gerade im E.L.S. besonders starke Glykogenanhäufungen nachweisen konnten. (Aschoff, Berblinger, Mönckeberg u. a.). So ergab sich meine Aufgabe, histologische und chemische Untersuchungen an dem gleichen Material nebeneinander durchzuführen, um herauszufinden, worauf die ausgesprochenen Gegensätze bei den Ergebnissen der Anatomen und Physiologen zurückzuführen sind und wer von beiden recht hat. Als ich meine Untersuchungen fast beendet hatte, erschien eine Arbeit von Noll und Becker, die sich die gleiche Aufgabe gestellt hatten. Da die beiden Forscher sich jedoch auf die Untersuchungen einiger Schlachttiere (Kalb, Schaf, Pferd) beschränkt hatten und da sie vor allem keine Gelegenheit hatten, menschliches Material zu untersuchen, führte ich meine Untersuchungen bis zu Ende durch.

Material.

Ich untersuchte außer vier Herzen erwachsener Menschen die Herzen folgender Tiere: Frosch, Maus, Kaninchen, Katze, Schwein, Kalb, Ochse, Pferd.

Bei den kleineren Tieren konnten die Herzen im Laboratorium unmittelbar dem betäubten Tier entnommen werden, es konnten also in allen diesen Fällen die noch schlagenden Herzen sofort sowohl für die chemische wie die histologische

Untersuchung verarbeitet werden. Die Herzen der größeren Tiere mußten vom Schlachthofe bezogen werden. Es ließ sich dabei nicht umgehen, daß einige Zeit — aber nur bis zu höchstens einer Stunde — verging, bis das Material zur Verarbeitung kam. Die von mir untersuchten menschlichen Herzen stammen von Hingerichteten. Hier war es in allen Fällen möglich, die Organe unmittelbar nach dem Tode noch in voller Tätigkeit zu entnehmen und sofort der Untersuchung zuzuführen.

Die Präparation des E.L.S. führte ich unter Benutzung der Angaben von His jun., Tawara, Keith und Flack, Retzer, Holl, Tandler, Koch u.a. durch. Für die Darstellung des E.L.S. im Pferdeherzen leisteten mir die Angaben von Petersen und Schauder gute Dienste.

Chemische Untersuchungen.

Schrifttum.

Buadze und Wertheimer benutzten zu ihren Untersuchungen nur Pferdeherzen. Herzen von Kalb, Rind und Schaf zogen sie nicht in den Bereich ihrer Untersuchungen, weil bei diesen Tieren der Glykogenabbau zu rasch vor sich gehen soll und deswegen die Ergebnisse unsicher seien. Das Material vom E.L.S. wurde nur den peripheren Teilen der Schenkel entnommen. Tawaraknoten u. Crus commune ließen sich präparatorisch nicht darstellen, kamen also nicht zur Untersuchung. Buadze und Wertheimer benutzten zur Glykogenbestimmung die Originalmethode von Pflüger. Nach welcher Methode die Zuckerbestimmung durchgeführt wurde, ist leider nicht angegeben. Die Untersuchungen wurden ½ bis 20 Stunden nach dem Tode vorgenommen und zeigten stets das gleiche Ergebnis, nämlich im Herzmuskel einen durchschnittlich siebenmal größeren Glykogengehalt als im E.L.S. Die Frage nach dem Glykogengehalt des E.L.S. wurde erneut von Yamazaki und unabhängig von diesem von Matzumori in Angriff genommen. Beide untersuchten die Herzen von Pferd und Rind und fanden im E.L.S. stets mehr Glykogen als im Herzmuskel selbst. Das Glykogen bestimmten sie nach den Methoden von Pflüger und Takahata, die Zuckerbestimmung führten sie nach Hagedorn-Jensen durch.

Noll und Becker waren die ersten, welche die histologischen und chemischen Untersuchungen nebeneinander ausführten. Sie untersuchten Herzen vom Pferd, Kalb und Schaf, benutzten zur Glykogenbestimmung die Methode von Pflüger und die Mikromodifikation derselben nach Goldfe-

derova. Den Zuckergehalt bestimmten sie nach Hagedorn-Jensen, Fehling, Lehmann und Schoorl. Die Untersuchungen konnten meist erst mehrere Stunden nach dem Tode durchgeführt werden. Den mittlerweile eingetretenen Glykogenschwund berücksichtigten die Autoren nicht, da es nicht auf die absoluten Glykogenmengen, sondern vielmehr auf die Vergleichswerte ankam. Noll und Becker fanden im E.L.S. durchschnittlich dreizehnmal mehr Glykogen als im Herzmuskel.

Eigene Untersuchungen.

Methoden.

An den so rasch wie möglich herausgenommenen Herzen präparierte ich zuerst das E.L.S. und stellte mit Hilfe einer Torsionswaage das Gewicht der einzelnen Teile des E.L.S. (Crus commune + Tawaraknoten, rechter Schenkel u. linker Schenkel) fest. Es wurden nun entweder die einzelnen Teile getrennt oder auch das E.L.S. im Ganzen weiter verarbeitet. Das Gewicht der untersuchten Teile schwankte meist zwischen 20 und 50 Milligramm. Die Untersuchung einer etwa gleichen Gewichtsmenge Herzmuskulatur, welche in Form eines dünnen Scheibchens dem Innern der Kammerscheidewand entnommen wurde, wurde parallel mit der Untersuchung des E.L.S. durchgeführt.

Die Fällung des Glykogens wurde nach der Mikromodifikation der Pflügerschen Methode vorgenommen: Im kochenden Wasserbade hält man Reagenzgläser bereit, die 1 ccm 60%ige KOH enthalten; in sie hinein gibt man das Material und läßt für 2 Stunden kochen. Die Lösung geht bei Verwendung von frischem Material meist schon nach kurzer Zeit vor sich, sie dauert aber länger bei Verwendung von fixiertem Material. Nach dem Kochen verdünnt man die Lösung auf das doppelte und setzt zur Fällung des Glykogens 5 ccm 96%igen Alkohol zu. Am anderen Tag wird durch ein Schwedenfilter filtriert, das zuvor für 1 Stunde in destilliertem Wasser gekocht war, um reduzierende Substanzen zu entfernen, die nach Sabalitschka sonst in Lösung gehen und die Ergebnisse unrichtig gestalten können. Das auf dem Filter zurückgebliebene Glykogen wird dann 2 mal mit einer Mischung, die 2 Volumen 15%ige KOH und 1 Volumen 96%igen Alkohol enthält, und 1 mal mit 96%igen Alkohol gewaschen. Dabei gibt man die Flüssigkeit zunächst in das Reagenzglas, um die noch zurückgebliebenen Glykogenmengen auszuspülen, und bringt sie dann erst auf das Filter. Hierauf wird das Glykogen in Lösung gebracht, indem das Filter in

heißem Wasser ausgewaschen und nachher nochmals gründlich abgespült wird. Die Lösung wird dann auf einige ccm eingeengt, in ein Reagenzglas übertragen, auf 10 ccm aufgefüllt und mit 0,5 ccm einer HCl vom spezifischen Gewicht 1,19, was einem HCl-Gehalt von etwa 2,2% entspricht, versetzt. Darauf wird für 3 Stunden im kochenden Wasserbad hydrolysiert und dann mit konzentrierter Sodalösung neutralisiert.

Die Zuckerbestimmung führte ich ausschließlich nach der Methode von Hagedorn-Jensen durch. Der neutralisierten Zuckerlösung werden 2 ccm einer n/200 Kaliumferricyanidlösung — abgemessen mit der Mikrobürette — zugesetzt. Die Mischung wird genau 15 Minuten zusammen mit 2 Leerbestimmungen im Wasserbade gekocht und dann sogleich abgekühlt. Nun wird in einem Präparatenglas titriert nach Zusatz von:

1. 3 ccm einer Lösung, die auf 200 ccm Wasser 50 g NaCl, 10 g $ZnSO_4$ und 5 g KJ enthält;
2. 2 ccm 3%iger Essigsäure;
3. einigen Tropfen 1%iger Stärkelösung.

Die zur Titration verwandte n/200 Natriumthiosulfatlösung wird vorher gegen eine konstante Kaliumjodatlösung eingestellt. Der abgelesene Wert wird mit dem Faktor der Natriumthiosulfatlösung multipliziert und der zugehörige Wert der Tabelle entnommen. Davon wird der Null-Wert abgezogen, der Rest mit dem Faktor 0,927 multipliziert und so die vorhandene Glykogenmenge gefunden.

Besonders wurde darauf geachtet, daß die Werte möglichst innerhalb der Breite von 0,350 — 0,025 mg lagen, da sonst nach Sabalitschka die Methode unsicher wird.

Das tierische Material wurde ausnahmslos frisch untersucht. Das menschliche Material dagegen mußte aus äußeren Gründen vorher fixiert werden, nur ein menschliches Herz kam in frischem Zustand zur Untersuchung. Zur Fixation wurde Formol-Alkohol verwandt. Um eine möglichst rasche Fixation zu gewährleisten, wurde die Fixationsflüssigkeit durch die Carotiden injiziert. Diese Methode konnte ohne Bedenken angewandt werden, da im Vorversuch festgestellt worden war, daß der Glykogengehalt des in Formol-Alkohol fixierten Materiales, selbst wenn man Stückfixation vornimmt, sich überhaupt nicht oder nur ganz wenig gegenüber dem des frischen Materiales unterscheidet. Bei der Stückfixation müssen natürlich möglichst dünne Organstückchen verwandt werden. Die Ergebnisse des Vorversuchs sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die hierzu angegebenen Gewichte beziehen sich auf frisches Material. Die Fixation wurde nach der Wägung vorgenommen.

Tabelle 1.

	Art des Materials	Mengen in mg		Glykogengeh. in %	
		des fr. Mat.	des fix. Mat.	des fr. Mat.	des fix. Mat.
Kalb 1	Herzm.	226,0	205,0	0,065	0,060
Kalb 3	„	194,4	167,8	0,125	0,131
Ochse 1	„	38,8	43,5	0,120	0,107
Pferd 1	„	22,8	32,0	1,684	1,610
Kalb 3	r. Sch.	19,0	14,6	0,116	0,115
Ochse 2	Crus c.	60,9	54,1	0,112	0,100
Pferd 2	l. Sch.	14,5	23,5	0,772	0,725
Mensch 1	Herzm.	77,6	50,4	0,274	0.256

Herzm. = Herzmuskel
r. Sch. = rechter Schenkel
l. Sch. = linker Schenkel
Crus c. = Crus commune
fr. Mat. = frisches Material
fix. Mat. = fixiertes Material

Eine Schwierigkeit bei der Verarbeitung des nur in fixiertem Zustand vorliegenden Materials ergab sich insofern, als das Gewicht eines fixierten Organstückes nicht ohne weiteres gleichgesetzt werden kann dem Gewicht entsprechender Mengen unfixierten Materials; denn der verdunstende Alkohol und die mehr oder weniger große Flüssigkeitsmenge, die dem Organstück anhaftet, wird jedes genaue Wiegen unmöglich machen. Deshalb ging ich dazu über, zunächst die Trockensubstanz zu bestimmen. Dabei stellte ich fest, daß das fixierte Material durch die Fixation nichts an Substanz verloren hatte. Sodann ließ sich ein Faktor finden, der:

1. für fixiertes und nicht fixiertes Gewebe gleich ist;
2. gleich ist für Mensch und Tier;
3. verschieden groß ist für Herzm. und E.L.S.

Dies zeigt die Tabelle 2.

Tabelle 2.

	H. M. in mg frisch	H. M. in mg trocken	Faktor	H. M. in mg frisch	H. M. in mg trock. n. Fix.	Faktor
Kalb 4	133,5	26,9	4,723	997,0	211,7	4,709
Kalb 5	132,4	27,8	4,763	153,7	32,4	4,744
Pferd 3	153,5	32,5	4,723	148,5	31,9	4,655
Ochse 3	93,0	20,1	4,627	231,9	48,4	4,791
Schwein 1	1199,0	223,6	4,728	835,0	177,5	4,704
Mensch 1	44,0	9,4	4,681	78,0	16,5	4,727
Mensch 1	1081,0	228,0	4,741	690,1	143,5	4,809
		Mittel:	4,712		Mittel:	4,734
	E. L. S.	E. L. S.		E. L. S.	E. L. S.	
Kalb 3	43,5	7,1	6,127	18,0	3,0	6,000
Ochse 3	60,9	10,3	5,913	46,5	7,4	6,284
Kalb 5	18,0	2,9	6,207	14,6	2,5	5,840
Pferd 3	10,6	1,7	6,235	23,5	3,8	6,184
		Mittel:	6,121		Mittel:	6,077

Der gefundene und später verwandte Faktor beträgt also für die Herzmuskulatur nach der Fixation 4,734, für das E.L.S. 6,077.

Der größere Faktor des E.L.S. gegenüber dem des Herzmuskels weist auf dessen größeren Flüssigkeitsgehalt hin.

Die Ergebnisse der untersuchten Tierherzen (Kalb, Ochse, Hammel, Schwein, Pferd) sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3.

Tier	Zeit seit dem Tode	E.L.S.	E.L.S. in mg	Herzm. in mg	Glykogengeh. in %		Verhältnis 1:
					E. L. S.	Herzm.	
Kalb 1	1°	ganz	98,4	226,0	0,165	0,065	2,538
Kalb 6	1 1/2°	„	123,0	148,0	0,087	0,053	1,642
Kalb 7	3/4°	„	46,5	111,5	0,508	0,378	1,344
Hammel 1	3/4°	„	75,6	81,9	1,788	0,981	1,814
Schwein 1	1 1/4°	„	37,1	40,4	0,045	0,016	2,813
Pferd 1	1 1/2°	„	112,1	122,8	5,800	1,684	3,452
Pferd 4	1 1/2°	„	83,0	137,9	0,134	0,026	5,154
Pferd 5	1°	„	147,7	136,7	0,229	0,039	5,872
Kalb 8	1°	r. Sch.	12,4	53,7	1,411	1,050	1,343
		l. Sch.	30,8		1,205		1,246
Kalb 9	1 1/2°	r. Sch.	24,1	33,5	1,137	0,176	6,920
		l. Sch.	44,5		1,218		6,921
Kalb 10	1 1/2°	r. Sch.	34,5	39,8	1,564	0,839	1,862
		l. Sch.	52,8		0,992		1,179
Kalb 11	1 3/4°	r. Sch.	24,1	29,4	1,104	0,125	8,832
		l. Sch.	19,0		1,116		8,928
		Crus c.	41,1		0,975		7,800
Ochse 1	1 1/2°	r. Sch.	24,0	39,8	1,108	0,121	9,233
		l. Sch.	39,8		1,078		8,983
		Crus c.	54,0		1,091		9,093

Aus der Tabelle 3 geht hervor, daß bei allen untersuchten Tieren der Glykogengehalt im E.L.S. höher ist als in der Herzmuskulatur. Die Werte schwanken jedoch im einzelnen sehr, und zwar sowohl hinsichtlich der verschiedenen Tierarten als auch hinsichtlich der einzelnen Individuen ein und derselben Tierart. So betrug bei Kalb 7 der Glykogengehalt im E.L.S. das 1,344 fache des Glykogengehaltes im Herzmuskel, bei Kalb 1 das 2,538 fache, bei Kalb 11 das 8,928 fache und schließlich, um die höchste Zahl herauszugreifen, bei dem Ochsenherzen das 9,233 fache. Bei den untersuchten Pferdeherzen schwanken die Zahlen zwischen 3,452 und 5,872.

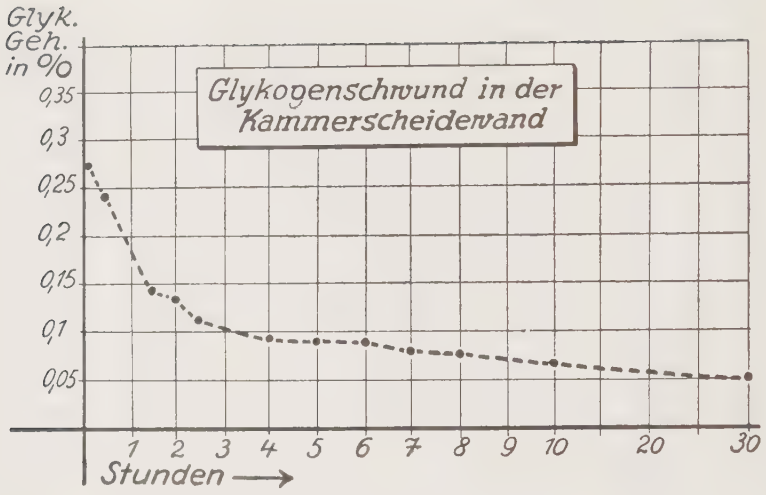
Von den 4 zur Verfügung stehenden menschlichen Herzen wurde ein Herz (Herz 1) in frischem Zustand untersucht. Es handelt sich dabei um das Herz eines 32 Jahre alten Hingerichteten. Mit der Präparation des Herzens konnte 8 Minuten nach dem Tode begonnen werden. Zu Beginn der Untersuchung schlug das Herz noch ganz regelmäßig in normalem

Rhythmus. Es vollführte etwa 60 Schläge in der Minute. Auch während der Präparation konnten noch bis 1½ Stunden nach dem Tode, besonders auf Druck hin Kontraktionen beobachtet werden, am längsten am linken Vorhof. Zunächst wurden Teile des E.L.S., und zwar vom rechten und linken Schenkel, vom Crus commune und dem Sinusknoten sowie kleine Stückchen aus den Herzohren und aus der Kammerscheidewand für die histologische Untersuchung in die Fixationsflüssigkeit gebracht, sodann Teile des rechten und linken Herzohres, des rechten und linken Vorhofes, der rechten und linken Kammer sowie der Kammerscheidewand der chemischen Untersuchung zugeführt. Um den Glykogenschwund im menschlichen Herzmuskel, über den für die erste Stunde nach dem Tode im Schrifttum noch keine Angaben vorliegen, zu verfolgen, wurden in bestimmten Zeitabständen weitere Stückchen aus den oben genannten Herzteilen chemisch, z. T. auch histologisch untersucht. (s. Tab. 4 S. 11 und Tab. 5 S. 13). Die Untersuchung erstreckte sich für die Kammerscheidewand auf den Zeitraum von 30 Stunden. Die Ergebnisse der Tabelle 4 wurden, soweit sie die Kammerscheidewand betreffen, in der Kurve Seite 12 verarbeitet. Tabelle und Kurve zeigen:

1. daß der Glykogengehalt in der Muskulatur der verschiedenen Herzabschnitte annähernd gleich ist,
2. daß sich hinsichtlich des zeitlichen Ablaufes des Glykogenschwundes die einzelnen Herzabschnitte fast gleich verhalten,
3. daß der Glykogengehalt im Verlaufe der ersten Stunden nach dem Tode besonders stark abnimmt, daß er aber von der 2. Stunde ab ganz langsam sinkt.

Tabelle 4.

Zeit seit dem Tode	Rechtes Herzohr	Linkes Herzohr	Recht. Vorhof	Linker Vorhof	Rechte Kammer	Linke Kammer	Kammerscheidewand
15'	0,240	0,257	0,207	0,298	0,297	0,236	0,274
30'	0,184	0,208	0,192	0,208	0,248		0,256
1°	0,151	0,189			0,135	0,217	
11/2°		0,097	0,181	0,163	0,135		0,146
2°	0,108						0,129
21/2°				0,135	0,111	0,132	0,108
3°			0,141		0,092	0,121	
4°				0,132		0,112	0,092
5°			0,120	0,079	0,076	0,083	0,090
6°							
7°							0,079
8°							0,071
9°							
10°							0,064
30°							0,050



Die drei übrigen menschlichen Herzen (Herz 2, 3 und 4) wurden vor der Untersuchung mit Formol-Alkohol fixiert, und zwar vor der Herausnahme aus dem Körper durch Einströmenlassen der Fixationsflüssigkeit durch die Carotiden. Hierbei stellen sich die Aortenklappen. Es fließt also die Fixationsflüssigkeit nicht in die Herzkammer ein, sondern sie breitet sich durch die Kranzarterien des Herzens rasch und meistens sehr gleichmäßig in der Herzwand aus. Während des Einlaufens der Flüssigkeit wurde das Herz freigelegt und mit einer Pravazspritze Fixationsflüssigkeit in die Vorhöfe und Kammern eingespritzt. Bei der 5 Stunden nach der Injektion vorgenommenen Herausnahme des Herzens ließ sich durch Einschnitte in die Kammerwand feststellen, daß die Fixation im großen und ganzen beendet war. Nur im Herzen 2 war ein kleiner Bezirk in der Wand der linken Kammer noch unfixiert geblieben, offenbar infolge einer Gefäßverstopfung. Herz 2 stammt von einem 23 Jahre alten Hingerichteten. Mit der Injektion des Fixationsmittels wurde 3 Minuten nach dem Tode begonnen. Herz 3 ist von einem 35 Jahre alten Hingerichteten. Die Injektion begann 5 Minuten nach dem Tode. Bei Herz 4, das von einem 33 Jahre alten Hingerichteten stammt, konnte die Injektion gleichfalls schon 5 Minuten nach dem Tode vorgenommen werden.

Die Vorversuche an tierischen Herzen und an einem menschlichen Herzen (s. S. 9, Tab. 1) haben gezeigt, daß durch die Fixation mit Formol-Alkohol das vorhandene Glykogen gebunden wird, daß also ein Glykogenschwund von dem Augenblick der vollständigen Fixation ab nicht mehr eintritt. Allerdings vergeht bis zu dieser vollständigen Fixation je nach der angewandten Fixationsmethode mehr oder weniger lange Zeit, während der das Glykogen in den Teilen des Gewebes, in die das Fixationsmittel noch nicht eingedrungen ist, abnimmt. In der Tabelle 5, in der die Ergebnisse des frisch untersuchten und der fixierten Herzen gegenübergestellt sind, kommt dieses deutlich zum Ausdruck. Je rascher also die vollständige Fixation erreicht ist, um so größer ist die erhaltene Glykogenmenge. Da es sich aber bei den vorliegenden Untersuchungen nur darum handelt, festzustellen, wie sich im einzelnen Herzen der Glykogengehalt des E.L.S. zu dem der Muskulatur verhält, konnten ohne Bedenken auch die durch Injektion fixierten Herzen unter Benutzung des errechneten Faktors (s. Tab. 2 S. 9) zur chemischen Untersuchung herangezogen werden.

Für die chemische Untersuchung der Herzen 2, 3 und 4 (s. Tabelle 5) wurden Teile der beiden Herzohren, der beiden Vorhöfe, der beiden Kammern, der Kammerscheidewand sowie des Crus commune und des rechten Schenkels des E.L.S. verwandt. Der linke Schenkel des menschlichen Herzens kommt für die chemische Untersuchung nicht in Frage, da er sich gleich nach seinem Abgang teilt und in breiter Ausdehnung an der Kammerscheidewand herunterzieht, also für die chemische Untersuchung nicht einwandfrei isolierbar ist. Die für die einzelnen Glykogenbestimmungen benutzten Substanzmengen betrugen bis zu je 100 mg.

Tabelle 5.

Herz	Rechtes Herzohr	Linkes Herzohr	Rechter Vorhof	Linker Vorhof	Rechte Kammer	Linke Kammer	Kammerscheidewand	Crus c. und r. Sch.	Verh. 1 :
1 frisch	0,240	0,257	0,207	0,298	0,297	0,236	0,274		
2 fix.	0,102	0,174	0,129	0,120	0,089	0,076	0,089	0,374	4,202
3 „	0,159	0,158	0,140	0,131	0,056	0,048	0,061	0,455	7,459
4 „	0,170	0,156	0,181	0,149	0,111	0,104	0,114	0,236	2,070

Aus Tabelle 5 geht hervor, daß der Glykogengehalt in den einzelnen Teilen der fixierten Herzen (2—4) jeweils geringer ist als in den entsprechenden Teilen des nicht fixierten Herzens. Diese Unterschiede sind wohl darauf zurückzuführen, daß wie oben ausgeführt wurde, bis zur vollständigen Fixation einige Zeit vergeht, in der ein wenn auch geringer Abbau an Glykogen eintritt. Es besteht natürlich

auch noch die Möglichkeit, daß der Unterschied im Glykogengehalt der Herzen 2 - 4 einerseits und des Herzens 1 andererseits individuelle Gründe hat; denn daß der Glykogengehalt des Herzens individuell sehr verschieden sein kann, zeigen auch die Untersuchungen am Tier. (Tabelle 3 S. 10). Eins aber geht aus der Tabelle 5 klar und deutlich hervor, daß, wie bei allen untersuchten Säugern so auch beim Menschen das E.L.S. glykogenreicher ist als der Herzmuskel. Im Falle des Herzens 3 war der Glykogengehalt im E.L.S. 7,4 mal größer als in der Herzmuskulatur.

Das Verhältnis des Glykogengehaltes des E.L.S. zu dem der Herzmuskulatur verschiebt sich nun noch weiter zugunsten des E.L.S., wenn man berücksichtigt, daß im E.L.S. die spezifischen, das Glykogen führenden Fasern in reichliche Mengen glykogenfreien Bindegewebes eingehüllt sind, während im Herzmuskel das Bindegewebe sehr zurücktritt. Nun ist durch Präparation im E.L.S. das Bindegewebe nicht von den spezifischen Fasern zu trennen, eine unmittelbare Bestimmung des Glykogens der spezifischen Fasern ist also ausgeschlossen. Dagegen glaube ich auf dem Umwege über den mikroskopischen Schnitt wenigstens einen Annäherungswert errechnen zu können. Ich verfuhr dabei in folgender Weise: Ich zeichnete mit Hilfe des Projektions-Zeichenapparates von Winkel-Zeiß das Präparat eines mikroskopischen Querschnittes des E.L.S. auf ein Blatt Papier. Ich umriß dann das ganze Bündel und in ihm die einzelnen spezifischen Fasern. Dann schnitt ich die den spezifischen Fasern entsprechenden Teile aus und verglich ihr Gewicht mit dem der übrig gebliebenen Papierteile, welche dem Bindegewebe entsprachen. Das Ergebnis ist natürlich nicht absolut richtig; denn das Gewicht des verhältnismäßig lockeren Bindegewebes ist wohl etwas geringer als das der Muskelfasern. Doch dürften die gefundenen Zahlen in etwa den tatsächlichen Verhältnissen gerecht werden. Ich bestimmte die Werte für das Kalb und für den Menschen und fand für Kalb 1 im Crus commune das 2,4 fache an Bindegewebe gegenüber den spezifischen Fasern, im linken Schenkel das 3,2 fache und schließlich im rechten Schenkel das 2,2 fache an Bindegewebe. Die für Kalb 1 angegebenen Glykogenmengen sind also im E.L.S. tatsächlich bis 3 mal größer. Dem Kalbsherzen entspricht in etwa das vom Ochsen, Hammel und Pferd. Ganz anders dagegen das menschliche Herz. Hier macht das Bindegewebe im Bündel nur einige Prozent aus und kann hier deshalb vollkommen unberücksichtigt bleiben.

Nicht unerwähnt bleiben sollen Versuche, Glykogen durch Zuführung von Traubenzucker anzureichern. Beim Frosch war es leicht, nach dem Vorgange von Heiderich, durch wie-

derholte Einspritzung von mehreren ccm einer 20%igen Traubenzuckerlösung in den dorsalen Lymphsack innerhalb weniger Tage eine starke Zunahme des Glykogens in sämtlichen Organen, besonders auch im Herzen zu erreichen. Es trat dabei Glykosurie und in schweren Fällen Acetonurie und Coma auf. Ähnliche Versuche wurden mit 20 bunten Mäusen angestellt, aber mit völlig gegenteiligem Ergebnis. Auch hier wurden wiederholt mehrere ccm einer 20%igen Traubenzuckerlösung subcutan gespritzt, wobei die ersten Dosen meist viel schlechter vertragen und auch viel langsamer resorbiert wurden als die letzten. Dabei gelang mir aber keine Anreicherung des Glykogens; das Myocard blieb, wie das histologische Bild zeigte, frei von Glykogen, während im E.L.S. Glykogen gerade eben sichtbar war. Von ähnlichen Ergebnissen berichtet Berblinger bei Verfüttern von Kohlehydraten bei Katzen, Kaninchen und besonders bei Meerschweinchen. Beim Kaninchen versuchte ich dadurch Glykogen zur Anreicherung zu bringen, daß ich durch das Gefäßsystem des Tieres Locke'sche Nährlösung, der 2 % Traubenzucker zugesetzt waren, strömen ließ. Die Flüssigkeit war auf 37° erwärmt und mit Sauerstoff gesättigt. Ich ließ sie aus einem Irrigator dem durch Nackenschlag betäubten Tier in die Carotis einlaufen. Aus der eröffneten A. pulm. floß die durchströmende Flüssigkeit aus. So ließ ich in einer Stunde 5 Liter Zuckerlösung durchlaufen und spülte dann, um eine sofortige Fixation herbeizuführen, mit Formol-Alkohol nach. Die Untersuchung ergab jedoch, daß beim Kaninchen auch auf diese Weise eine Anreicherung von Glykogen nicht zu erzielen war. Selbst die Leber war völlig glykogenfrei, es war offenbar sogar vorhandenes Glykogen ausgespült worden.

Histologische Untersuchungen.

Methoden.

Fixation.

Da das Glykogen wasserlöslich ist, wird im Schrifttum im allgemeinen vor der Verwendung wässeriger Fixationsflüssigkeiten gewarnt, und es werden reiner Alkohol oder alkoholische Flüssigkeiten empfohlen. Der größten Beliebtheit erfreut sich die Carnoy'sche Flüssigkeit, die neben absolutem Alkohol Eisessig und Chloroform enthält. Ihr Gehalt an Eisessig soll das Eindringen in die Gewebe begünstigen, das Chloroform die Fermentwirkung augenblicklich unterbrechen. Salkowsky hat jedoch nachgewiesen, daß das Chloroform zwar jede Zelltätigkeit aufhebt, jedoch die Wirkung des diastatischen Fermentes nicht aufhebt. Neukirch empfahl zur Glykogen-Fixation ein wässeriges Gemisch, bestehend aus einer Formalinlösung, der Traubenzucker bis zur Sättigung zugesetzt ist. Die Zusammensetzung seines Fixationsmittels beruht auf der Überlegung, daß Spaltprodukte das zugehörige Ferment in seiner Wirkung hemmen. Und in der Tat zeichnen sich die nach Neukirch fixierten Präparate nicht nur durch einen großen Glykogenreichtum aus, sondern auch die Verteilung des Glykogens innerhalb der einzelnen Zelle ist gleichmäßiger und die sog. „Glykogenflucht", d. h. die Verlagerung des Glykogens an die der eindringenden Fixationsflüssigkeit entgegengesetzten Seite der Zelle ist nicht so stark ausgeprägt wie bei der Verwendung anderer Fixationsmittel. Wenn aber von mehreren Forschern, u. a. Münzer mit der Neukirch'schen Methode mehr Glykogen zur Darstellung gebracht wurde als mit den übrigen Methoden, so drängt sich die Frage auf, ob nicht aus dem reichlich vorhandenen Traubenzucker eine Glykogensynthese im Präparat stattfinden könnte, da ja zwar die zugehörigen Fermente durch den Traubenzucker unwirksam gemacht worden sind, die glykogenbildenden Fermente jedoch unberührt bleiben. Daß am überlebenden Material Glykogensynthese eintreten kann, ist eine bekannte Tatsache. Nach Grube kann

aus Glycerin, ja sogar aus Formalin bei der Durchströmung der Leber Glykogen entstehen. Das Neukirch'sche Fixationsmittel hat aber auch noch den Nachteil, daß es die Präparate zu sehr härtet. Ich benutzte darum das Neukirch'sche Fixationsmittel nicht, sondern wandte auf Grund einer Reihe von Versuchen Formol-Alkohol an, d. h. ein Gemisch von Formalin und absolutem Alkohol zu gleichen Teilen. Dies Gemisch empfiehlt auf Grund eingehender Untersuchungen neuerdings Tanaka ganz besonders. Die Fixationsflüssigkeiten dringen nur sehr langsam in den Herzmuskel ein. Ich stellte z. B. fest, daß ein Präparat von der linken Kammer des Kalbsherzens in Formol-Alkohol nach 24 Stunden noch nicht völlig durchfixiert war. Man darf deswegen bei der Fixation nur ganz dünne Scheibchen einlegen oder muß, wenn es darauf ankommt, das ganze Organ rasch zu fixieren, das Fixationsmittel durch die Blutgefäße injizieren. Daß bei zu langsamer Fixation ein Glykogenverlust eintritt, läßt sich am histologischen Präparat sehr schön beobachten. Man findet an solchen Präparaten häufig, daß der Rand des Präparates reichlich Glykogen aufweist, während im Innern des Präparates sich kein Glykogen mehr findet.

Eine wichtige Rolle soll bei der Fixation die Temperatur spielen. Nach Möglichkeit soll bei 0° fixiert werden, da dann der Glykogenschwund am geringsten sei. Nach Külz schwindet aber auch bei stärkerer Abkühlung das Glykogen in erheblichem Maße. Fixationsversuche, die ich bei verschiedenen Temperaturen durchführte, lieferten keine ausgesprochenen Ergebnisse.

Die Frage, ob das Glykogen bei der Fixation in der Form erhalten bleibt, die es in der lebenden Zelle besitzt, d. h. ob die im Schnittpräparat sichtbaren Glykogengranula Kunstprodukte sind oder nicht, ist immer noch unentschieden. Eine Reihe von Forschern u. a. Arnold, Berblinger, Patzelt sind der Meinung, daß die Glykogengranula vitale Bildungen sind. Berblinger glaubt dieses aus seinem Modellversuch schließen zu können. Er durchtränkte Wattewürfel mit Glykogenlösung, fixierte die Würfel mit absolutem Alkohol und fand im mikroskopischen Präparat keine körnige Fällung des Glykogens, sondern eine diffuse Verteilung desselben. Er schloß daraus, daß das Glykogen durch den Alkohol nicht in granulärer Form gefällt werde. Noch nicht veröffentlichte Versuche Heiderichs scheinen jedoch das Gegenteil zu beweisen. Brachte er Eiweiß und Glykogenlösung zusammen und fixierte er diese Masse mit irgendeinem der gebräuchlichen Fixationsmittel, so fand er stets in den aus der fixierten Masse hergestellten Schnittpräparaten das Glykogen in Körnchenform. Die Körner waren umso größer, je höher die Konzentration der verwandten Glykogenlösung war.

Diese Befunde decken sich durchaus mit Schnittpräparaten von glykogenhaltigen Organen, in denen auch die Größe der in der Zelle verbreiteten Körnchen mit der Menge des in der Zelle enthaltenen Glykogens zunimmt.

Einbettung.

Als Einbettungsmethode kommt, wenn man zur Färbung wässerige Lösungen verwenden will, nur die Celloidin-Einbettungsmethode nach Schiefferdecker infrage. Man kann wohl in Paraffin einbetten, muß aber dann nach dem Vorgange von Arnold die aufgeklebten Paraffinschnitte mit einer dünnen Celloidinschicht überziehen. Ich benutzte diese Methode, die ich insofern modifizierte, als ich das dünne Celloindinhäutchen samt den Schnitten vom Objektträger abzog und wie richtige Celloindinschnitte weiter behandelte. Daß die so hergestellten Präparate in Bezug auf die Löslichkeit des Glykogens den Celloidinschnitten völlig gleichwertig sind, beweist die Tatsache, daß nach einem achttägigen Verweilen der Schnitte in Wasser ihr Glykogengehalt nicht vermindert war.

Färbung.

Der histo-chemische Nachweis des Glykogens gelingt am sichersten mit Hilfe des Jods, welches zuerst von Barfurth in Form von Jod-Glycerin angewandt wurde. Langhans benutzt 5%ige Lugol'sche Lösung, jedoch ist diese Methode wenig empfindlich. Von anderen Forschern wurden mit Hilfe der Jod-Räucherungsmethode ausgezeichnete Ergebnisse erzielt. Besonderen Wert hat die Ferricyankali-Jodkali-Methode von Kan Kato-Bleibtreu, die selbst dort große Mengen von Glykogen zur Darstellung bringt, wo die gewöhnlichen Jod-Methoden versagen, z. B. im Ovarium des Frosches, in dem große Mengen von Glykogen chemisch nachweisbar sind, die man färberisch nicht erfassen konnte. Die Methode beruht auf der Tatsache, daß Jod in statu nascendi besonders reaktionsfähig ist.

Eine sehr brauchbare Jod-Methode, die man auch ohne Gefahr bei gewöhnlichen Paraffinschnitten anwenden kann und die ich stets zur Kontrolle der Karminfärbung benutzte, ist die Jod-Carbol-Xylol-Methode nach Drießen. Man stellt die Lösung in der Weise her, daß man gleiche Teile von Carbol-Xylol und Lugol'scher Lösung in einem Reagenzglas kräftig durchschüttelt. Dabei geht das Jod in das Carbol-Xylol über, die Jod-Carbollösung schichtet sich über die wässerige Lösung. Mit einer Pipette entnimmt man Jodlösung und bringt sie unmittelbar auf die aufgeklebten Paraf-

finschnitte. Das Xylol löst das Paraffin, das Jod färbt das Glykogen. Es geht kein Glykogen verloren, da Glykogen in Carbol-Xylol nicht löslich ist. Die Methode hat nur den einen Nachteil, daß die Glykogenfärbung nach kurzer Zeit wieder verschwindet.

Um ganz sicher zu gehen, daß die mit Jod kastanienbraun gefärbte Substanz auch wirklich Glykogen ist, wendet man die Speichel- und die Erwärmungsprobe an. Läßt man auf das Präparat Speichel bei 37° einwirken, dann kommt es durch das Ptyalin des Speichels zur Glykogenolyse. Wenn also Glykogen vorgelegen hat, ist nach der Anwendung von Speichel keine Jodbräunung mehr zu erzielen. Es ist nötig, in jedem Falle die Speichelprobe vorzunehmen, denn nach Romieu färben sich mit der Jod-Methode auch Lecithine und Cholin, jedoch in etwas anderem Farbton, nämlich braunviolett. Mit Hilfe der Speichelprobe ist es jedoch stets möglich, Glykogen von den Lecithinen und Cholin zu unterscheiden; denn diese beiden Stoffe behalten ihre Braunfärbung durch Jod auch nach Anwendung des Speichels bei. Das Gleiche gilt für die Methode der Erwärmung des Präparates. Wie im Reagenzglas verschwindet auch in mit Jod gefärbten Präparaten beim Erwärmen die braune Farbe, die beim Abkühlen wiederkehrt, wenn die Braunfärbung durch Anwesenheit von Glykogen entstanden war. Die Braunfärbung verschwindet beim Erwärmen aber nicht, sondern wird dunkler, wenn Lecithine oder Cholin vorliegen. Romieu war zu seinen Untersuchungen veranlaßt worden durch die Beobachtung, daß in manchen Geweben, z. B. dem Myelin der Nerven, den roten Blutkörperchen der Säuger, den Eiern von Wirbeltieren und Wirbellosen, im Hoden von Säugern und manchen Neubildungen Glykogen chemisch nicht nachgewiesen werden konnte, während im mikroskopischen Präparat mit Hilfe der Jod-Methoden eine Braunfärbung erzielt worden war. Die Speichel- und die Erwärmungsprobe ergab in diesen Fällen einwandfrei, daß es sich bei den braungefärbten Massen nicht um Glykogen gehandelt hat. Mit Amyloid wird man Glykogen nicht verwechseln, wenn man die bekannte Schwefelsäure-Reaktion ausführt.

Von den verschiedenen Färbemethoden hat sich die Karminfärbung nach Best am meisten bewährt. Sie zeichnet sich durch große Klarheit, Empfindlichkeit und gegenüber den Jodmethoden durch Haltbarkeit aus. Da es sich um eine wässerige Farblösung handelt, ist die Einbettung in Celloidin zu empfehlen. Über die chemische Seite der Karminfärbung ist noch kein abschließendes Urteil zu geben, da die Konstitution des Karmins nicht bekannt ist. Nach Patzelt soll die Glykogenfärbung auf einer Lösung des Farbstoffes im Glykogen, ähnlich wie bei den Fettfärbungen,

beruhen. Die Karminlösung färbt am besten, wenn sie sich nahe an der Fällungsgrenze befindet. Sie altert sehr rasch, unter Umständen verliert sie schon nach kurzer Zeit ihre Färbefähigkeit. Bei der Verwendung von Karmin muß man beachten, daß außer Glykogen sich auch noch andere verwandte Stoffe nach Best färben, z. B. das Mucin, das als Glykoproteid dem Glykogen sehr nahe steht, wie Heiderich für das Mucin des Magenoberflächenepithels gegen Arnold nachweisen konnte. Durch die Speichelproben aber und die Jodmethoden ist stets die sichere Unterscheidung zwischen Glykogen und anderen Stoffen möglich.

Interessant ist nun, daß gerade die gealterte Karminlösung eine besonders gute Schleimfärbung gibt, während die frisch hergestellte Lösung den Schleim nicht oder nur schwach färbt. Den Grund für dieses Verhalten kennt man nicht, diese Frage bedarf also noch der weiteren Klärung.

Neben der Best'schen Färbemethode wird noch eine Reihe anderer Methoden zum färberischen Nachweis von Glykogen empfohlen. Sie spielen jedoch praktisch keine Rolle.

Mayer's Tinte, die lange Zeit haltbar ist und auch Dauerpräparate liefert, färbt Glykogen schwarz; jedoch ist die Methode beim Nachweis geringer Mengen unzureichend. Die Methode von Vastarini-Cresi, wonach das Glykogen rot gefärbt wird, während die elastischen Fasern blau hervortreten, ist sehr unsicher und trotz mancherlei Abwandlungen von Dolfini, Vorhoeve u. a. nicht allgemein anwendbar. Daß man nach Mayer Glykogen selbst mit Hämatoxylin, das aber noch nicht oxydiert sein darf, färben kann, ist vielleicht weniger bekannt. Kimura gibt eine Übersicht über die Empfindlichkeit einiger Methoden, die hier noch angeschlossen werden soll:

Tabelle 6.

Färbemethoden	0,004 %	0,04 %	0,4 %	4 %
Best (Karmin)	—	+	+	+
Mayer (Gallussäure)	—	—	+	+
Langhans (Jod)	—	—	—	+

Ich wandte fast ausschließlich die Best'sche Karminfärbung an, und zwar die neue Methode, jedoch nie ohne Kontrolle durch das Jod mittels der Drießen-Methode, die wohl die sicherste und einwandfreieste zum Glykogennachweis ist, sich durch ihre Einfachheit auszeichnet und besonders dann angebracht ist, wenn es gilt, sich schnell über den Glykogengehalt eines Präparates zu unterrichten.

Marchand war der erste, der darauf hinwies, daß die Purkinjeschen Fasern des Herzens reicher an Glykogen sind als die übrigen Herzmuskelfasern. Auf Veranlassung von Aschoff untersuchte daraufhin Nagayo die Herzen verschiedener Säuger und stellte in jedem Fall den hohen Glykogengehalt des E.L.S. fest, der am ausgesprochensten beim Huftier ist. Mit Hilfe dieser Methode können selbst die feinsten Verzweigungen des E.L.S. in prachtvoller Weise dargestellt werden. Nach Aschoff muß man zweierlei Formen von Glykogenablagerung unterscheiden, nämlich eine mehr diffuse, feinkörnige, welche dem interfibrillären Sarkoplasma entspricht und eine grobtropfige, die sich in dem großen perinukleären Sarkoplasmahof der Purkinjeschen Fasern findet, wobei unzweifelhaft das Glykogen des interfibrillären Protoplasmas ursprünglich in ganz diffuser Form vorhanden war und erst durch das Fixationsmittel in feinkörniger Form niedergeschlagen wurde. Auf dem Querschnitt zeigen sich als Folge der Glykogenflucht bei der Fixation die typischen Halbmondformen der Glykogenkörnchen, die in dem der Oberfläche abgewandten Teil der Zelle liegen. Dabei ist das ganze E.L.S. einschließlich des Sinusknotens, jedoch mit Ausnahme des Vorhofteiles des Tawaraknotens, durch seinen Glykogengehalt ausgezeichnet. Der Sarkoplasmareichtum der Purkinjeschen Fasern soll geradezu durch ihren Glykogengehalt bedingt sein. Auch die gewöhnlichen Herzmuskelfasern zeigen bei Rind, Schaf usw. einen deutlichen Glykogengehalt, der aber gegenüber dem des E.L.S. fast völlig verschwindet.

Nagayo untersuchte auch 30 menschliche Herzen, die 5—24 Stunden nach dem Tode fixiert wurden. In 12 Fällen zeigte sich ein deutlicher Glykogengehalt des E.L.S., wodurch dessen Verlauf ohne weiteres festgestellt werden konnte. Der rechte Schenkel war stets am schlechtesten zu finden. Die Glykogentropfen fanden sich sowohl interfibrillär wie auch z. T. in dem perinukleären Sarkoplasmahof, entsprechend den Befunden am Säugerherzen.

Bezüglich des Glykogengehaltes verhält sich nach Aschoff das menschliche Herz ähnlich dem des Hundes. Der Reichtum an Glykogen läßt an die embryonale Natur der Fasern denken, wie das auch von Autoren behauptet wurde, die zum Teil in den Fasern die Quelle des Herzmuskelwachstums erblickten; jedoch sind keine Kernteilungsfiguren nachweisbar, und als einfache Reste embryonalen Muskelgewebes kann man die Fasern wegen der systematischen An-

ordnung auch nicht auffassen. Deshalb wird diese Ansicht von Aschoff abgelehnt.

Im Gegensatz zu Aschoff glaubte Arnold, daß der Glykogengehalt des E.L.S. durch den Reichtum an Sarkoplasma, das die Trägersubstanz des Glykogens enthält, bedingt sei. Jedoch gibt es auch sarkoplasmareiche Fasern, die kein Glykogen enthalten und nicht dem E.L.S. angehören. Nach Arnold sollen postuterin die eigentlichen Myocardfasern beim Menschen vollständig glykogenfrei sein; für Rind, Kalb, Hammel, Kaninchen kann er das aber nicht bestätigen. Die Glykogengranula, die an die Sarkosomen gebunden sind, liegen in Längs- oder querer Richtung zwischen den Fibrillen und bei größerem Glykogengehalt entstehen in longitudinaler Richtung Reihen von Glykogengranula, welche in gleichen Abständen aufgestellt sind, durch fädige Fortsätze zusammenhängen und zu der Zwischenscheibe Z in Verbindung zu stehen scheinen. Die transversalen Granula sind als solche nur bei geringerem Glykogengehalt kenntlich und zeigen dann eine regelmäßige Lagerung an den Ecken der Muskelsegmente; bei glykogenreichen Fasern hat man mehr das Bild querer unregelmäßiger Linien. Durch Vereinigung der longitudinalen und transversalen Granulasysteme entstehen mehr oder weniger regelmäßige viereckige Netzfiguren, welche helle der Querscheibe Q entsprechende Felder begrenzen. An Querschnitten von Fasern trifft man meistens einzelne Granula in verschiedener Zahl, seltener netzförmige Figuren. Daß die Glykogenkörner nicht als Fällungsgranula angesprochen werden dürfen, zeigt der Nachweis am überlebenden Objekt mittels der Jodräucherung, besonders aber die gesetzmäßige Anordnung der Granula und deren morphologische Übereinstimmung mit derjenigen der Sarkosomen. Diffuse Färbungen kommen nach Arnold am Myocard selten vor, und ob eine diffuse Verteilung des Glykogens vital überhaupt vorkommt, scheint Arnold fraglich.

Mönckeberg untersuchte eine Reihe menschlicher Herzen und fand nicht einmal in der Hälfte der Fälle die Purkinjeschen Fasern glykogenreicher als die Myocardfasern. In keinem Fall konnte er Glykogen im Tawaraknoten, im Crus commune und in den oberen Abschnitten der Schenkel nachweisen. Die Fixation erfolgte erst mehrere Stunden nach dem Tode. Berblinger untersuchte neben menschlichen auch Herzen von Katzen, Kaninchen, Meerschweinchen und Fischen und konnte in jedem Fall im E.L.S. einen höheren Glykogengehalt nachweisen als in den Myocardfasern. Beim Menschen, wo die Fixation früher als durch Nagayo und Mönckeberg, nämlich schon 1–5 Stunden nach dem Tode erfolgte, waren in den meisten Fällen die Ergebnisse diesel-

ben. Auch enthielt das Myocard in vielen Fällen reichlich Glykogen, wenn auch in geringerem Maße als das E.L.S. Koch erhielt dieselben Resultate, betont aber, daß die Verhältnisse beim Menschen viel weniger ausgesprochen sind als beim Huftier, jedoch führt er dies z. T. auch auf die Verwendung von zu wenig frischem Material zurück. La Franca fand beim Schafsherzen im Keith-Flack'schen Knoten reichlich Glykogen, weniger im Tawaraknoten und His'schen Bündel, jedoch auch hier stets mehr als im Myocard. In letzter Zeit waren es Noll und Becker, die besonders beim Pferdeherzen den hohen Glykogengehalt des E.L.S. gegenüber dem Herzmuskel feststellten.

Ergebnisse der eigenen Untersuchungen.

Ich untersuchte zunächst das verhältnismäßig primitive Herz vom Frosch. Dieses zeichnet sich in allen seinen Teilen, vor allem auch im E.L.S. durch einen hohen Glykogengehalt aus, der, wie bereits S. 15 erwähnt, durch Injektion von Traubenzucker in den dorsalen Lymphsack noch vergrößert werden kann. Im Herzen der Maus dagegen — ich habe die Herzen von 20 bunten Mäusen untersucht — gelang es mir nur mit Mühe, Spuren von Glykogen nachzuweisen. Selbst im E.L.S. war kaum Glykogen zu finden. Eine Anreicherung von Glykogen ließ sich durch subcutane Injektion selbst großer Mengen Traubenzuckerlösung in keinem Falle erzielen. (s. auch S. 15).

In den Herzen von Kaninchen schwankt der Glykogengehalt sehr, worauf auch von mehreren Forschern u. a. Arnold hingewiesen wurde. Das Katzenherz ist hingegen regelmäßig — ich habe allerdings nur 6 Tiere untersuchen können — sehr arm an Glykogen. Das Herz vom Schwein zeigt einen geringen aber ganz regelmäßigen Glykogengehalt. Kalb, Ochse und Hammel stimmen hinsichtlich des Glykogengehaltes des Herzens gut überein. Bei diesen Tieren läßt sich im E.L.S. auch mikroskopisch regelmäßig eine größere Menge von Glykogen nachweisen. Nur der Vorhofsteil des Tawaraknotens enthält eigentümlicherweise kein Glykogen. Es darf in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, daß auch im physiologischen Experiment sich der Vorhofsteil des Tawaraknotens sehr wohl von dem Kammerteil unterscheidet. In der Herzmuskulatur war der färberische Nachweis von Glykogen stets sehr schwer. Bei den 16 Kalbsherzen, die ich untersuchte, erhielt ich regelmäßig das gleiche Ergebnis. Von allen untersuchten Tieren fand ich im Pferdeherzen den größten Glykogengehalt. Hier sind nicht

nur im E.L.S. sondern auch in der Muskulatur oft sehr große Mengen von Glykogen vorhanden.

Aus alledem ergibt sich, daß bei den verschiedenen Tierarten große Unterschiede im Glykogengehalt des Herzens bestehen. Worauf diese aber zurückzuführen sind, ist noch völlig unbekannt. Vielleicht weisen diese Unterschiede darauf hin, daß zwischen den verschiedenen Tierarten Verschiedenheiten im Kohlehydratstoffwechsel bestehen. Es ist sehr auffällig, daß gerade die Nager, welche den Hungerzustand sehr schlecht vertragen —, die Maus stirbt schon nach eintägigem Hungern — am wenigsten Glykogen im Herzen enthalten und auch nicht durch reichliche Traubenzuckerzufuhr zur Glykogenspeicherung veranlaßt werden können, daß aber andererseits Tiere, welche lange hungern können, wie Hund (Pflüger) und Frosch nie glykogenfrei werden und nach Traubenzuckerzufuhr Glykogen in stärkerem Maße speichern. Hier liegen also noch wichtige Fragen vor, die der Klärung bedürfen.

Über die Herkunft und die Vorbehandlung der vier menschlichen Herzen, die mir zur Verfügung standen, ist S. 10 und S. 12 das Nähere gesagt, da diese Herzen nebeneinander chemisch und histologisch untersucht wurden. Ich kann mich darum hier darauf beschränken, die mikroskopischen Ergebnisse für Herz 1, an dem der Glykogenschwund festgestellt werden konnte, in Tabelle 7, für Herz 1–4 in Tabelle 8 zusammenzustellen und verweise auf die Abbildung 2.

Tabelle 7. Herz 1.

Zeit seit dem Tode	Rechter Schenkel	Linker Schenkel	Crus com. und Tawara-knoten	Sinus-knoten	Kammer-scheide-wand	Linkes Herz-ohr	Rechtes Herzohr
15'	++	++	++	++	(+)	+	+
30'		++			(+)		
1°		+			(+)		
1½°		(+)			Spuren		
2°		(+)			"		
3°		(+)			"		
5°		Spuren			—		
10°		—			—		

+++ = sehr stark positiv
++ = stark positiv
+ = deutlich positiv
(+) = schwach positiv
Spuren
(—) = negativ

Tabelle 8.

Herz	Rechter Schenkel	Linker Schenkel	Crus com. + Taw. Knoten	Sinus-knoten	Kammer-Scheide-wand	Linkes Herzohr	Rechtes Herzohr
I	++	++	++	++	(+)	+	+
II	++	++	++	+	(+)	+	+
III	++	++	+	(+)	(+)	+	+
IV	+	+	+	(+)	(+)	(+)	+

Der Vergleich der Tabelle 8 mit Tabelle 5, in der die Ergebnisse der chemischen Untersuchungen der menschlichen Herzen zusammengestellt sind, zeigt, daß die Ergebnisse der chemischen und histologischen Untersuchungen einigermaßen parallel laufen. Darüber hinaus aber lassen sich bei der Betrachtung des mikroskopischen Präparates noch manche Einzelheiten feststellen, die durch die chemische Untersuchung nicht erfaßt werden können. So zeigt uns das histologische Präparat:

1. unter Umständen, wie das Glykogen innerhalb einer Zelle verteilt ist (Jodräucherung);
2. ob alle Zellen eines Gewebes oder nur vereinzelte glykogenhaltig sind;
3. welche Gewebe eines Organes das Glykogen enthalten.

Letzterer Umstand ist gerade für die Beurteilung des absoluten Glykogengehaltes des E.L.S. von großer Bedeutung. Hinsichtlich der Einzelheiten s. S. 14.

Zusammenfassung.

Die Behauptung von Buadze und Wertheimer, daß das E.L.S. weniger Glykogen enthalte als die Herzmuskulatur, ist falsch. Aus den Untersuchungen von Noll und Becker u.a. und aus den hier vorliegenden geht hervor, daß das E.L.S. bei allen untersuchten Tieren und auch beim Menschen einen größeren Glykogengehalt hat als die Muskulatur. Das Fehlergebnis Buadzes und Wertheimers erklärt sich mit Wahrscheinlichkeit daraus, daß die Beiden das zur Untersuchung verwandte Material, das nur den beiden Schenkeln des E.L.S. entstammt — Tawaraknoten und Crus commune konnten nicht dargestellt werden —, zu weit aus der Peripherie entnahmen und wegen der großen Bindegewebsmengen die gefundenen Werte zu klein sind. Auffallen muß auch, daß Buadze und Wertheimer von untersuchten Gewichtsmengen bis zu einem Gramm sprechen, während doch das Gesamtgewicht des E.L.S. bis zur

Aufspaltung in die falschen Sehnenfäden höchstens 200 mg beträgt. Meist liegt das Gesamtgewicht des E.L.S., und das gilt für alle untersuchten Tiere, unterhalb dieser Grenze. Dabei ist zu betonen, daß das E.L.S. des Kalbes quantitativ mindestens ebensoviel ausmacht wie das vom Ochsen, Pferd und erst recht vom Menschen. Gegen Buadze und Wertheimer ist ferner einzuwenden, daß sie ihre Untersuchungen nur am Pferdeherzen anstellten und dann die Ergebnisse verallgemeinerten.

Im menschlichen und im Säugetierherzen ist in jedem Falle im E.L.S. mehr Glykogen vorhanden als im Herzmuskel. Dieses zeigen die histologischen wie chemischen Befunde, die gut miteinander übereinstimmen. Der Grund für diesen Unterschied im Glykogengehalt ist nicht bekannt. Man kann daran denken, daß die Herzarbeit dabei eine wichtige Rolle spielt insofern, als vielleicht im lebenden Herzen im E.L.S. und im Herzmuskel gleichviel Glykogen vorhanden ist, daß aber bei den letzten Kontraktionen das Glykogen im Herzmuskel mehr oder weniger verbraucht wird und daß, da kein Ersatz mehr vorhanden ist, nichts regeneriert wird, während mit der Reizleitung ein geringer Glykogenschwund verbunden ist und so beim Tode mehr Glykogen erhalten bleibt. Ob im tätigen Herzen die einzelne Kontraktion wie beim quergestreiften Muskel einen größeren Einfluß auf den Glykogengehalt ausübt, d. h. ob dieser abnimmt während der Systole und wieder zunimmt während der Diastole, ist eine Frage, die noch der Klärung bedarf.

Beim Säugetier findet sich nach meinen chemischen Untersuchungen im E.L.S. bis zu 9 mal mehr Glykogen als im Herzmuskel, während ich beim Menschen im günstigsten Falle das 7fache feststellen konnte.

Es ist keineswegs berechtigt, an der Zuverlässigkeit der histologischen Methoden zu zweifeln. Alles, was sich im mikroskopischen Präparat mit Jod braun färbt, das oben angeführte Verhalten beim Erwärmen zeigt und bei der Speichelprobe verschwindet, ist Glykogen. Die Best'sche Methode gilt für den Glykogennachweis nur unter genauer Kontrolle durch die Jodmethoden.

Beim Vergleich der histologischen und chemischen Ergebnisse zeigt sich eine gute Übereinstimmung. Das histologische Präparat hat vor der chemischen Untersuchung den großen Vorteil, daß es uns genau den Sitz und die Verteilung des Glykogens im Gewebe zeigt, die chemische Methode dagegen hat den Vorrang dann, wenn es sich um die Bestimmung der absoluten Mengen des Glykogens in einem Organ handelt.

Hieraus ergibt sich die Forderung, nach Möglichkeit beide Methoden, die chemische und die histologische, nebeneinander anzuwenden.

Schrifttumverzeichnis.

1. Arnold. Über feinere Struktur und Architektur der Zellen: Muskelgewebe.
   Archiv für mikrosk. Anatomie. Bd. 52. 1898. S. 762.
2. Derselbe. Zur Morphologie des Muskelglykogens und zur Struktur der quergestr. Muskelfaser beim Frosch.
   Archiv für mikrosk. Anatomie Bd. 73. 1909. S. 265.
3. Derselbe. Über feinere Strukturen und die Anordnung des Glykogens in den Muskelfaserarten des Warmblüterherzens.
   Heidelberger Sitzungsberichte Jahrgang 1909. S. 1.
4. Aschoff. Über den Glykogengehalt des R.L.S. des Säugetierherzens. Nach Untersuchungen des Herrn Dr. Nagayo.
   Verhandl. der pathol. Gesellschaft Bd. 12. 1908. S. 150.
5. Barfurth. Vergleichende histochemische Studien über das Glykogen.
   Archiv mikrosk. Anatomie Bd. 25. 1885. S. 269.
6. Berblinger. Das Glykogen im menschlichen Herzen. Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie und allg. Pathologie Bd. 53. 1912. S. 351.
7. Best. Über Karminfärbung des Glykogens und der Kerne. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. 23. 1906. S. 319.
8. Bleibtreu. Zur mikrochem. Jodreaktion auf Glykogen. Pflügers Archiv Bd. 127. 1909. S. 118.
9. Blume. Chemische Untersuchungen über den Glykogengehalt und Gesamtkohlehydratgehalt des menschlichen Herzens.
   Beiträge pathol. Anatomie Bd. 93. 1934. S. 20.
10. Buadze und Wertheimer. Der Glykogengehalt des Reizleitungssystems im Herzen.
    Pflügers Archiv Bd. 219. 1928. S. 233.
11. Burian. Zur Histologie des Sinusknotens des menschlichen Herzens.
    Anatomischer Anzeiger Bd. 59. 1924. S. 306.
12. Ceelen. Das Reizleitungssystem des Herzmuskels.
    Berliner klinische Wochenschrift. 1919. S. 509.
13. Dolfini. A proposito de metodo Vastarini-Cresi per il glicogeno.
    Monit. zool. ital. Bd. 40. 1929. S. 123.
    Referiert im Anatomischen Bericht. Bd. 18. 1930.
14. Driessen. Zur Färbung des Glykogens.
    Zentralblatt pathol. Anatomie Bd. 16. 1907. S. 129.

15. Fahr. Zur Frage der atrioventrikul. Muskelverbindung im Herzen.
Verhandl. der d. pathol. Gesellschaft 12. Tagung. 1908. S. 153.
16. Frentzel. Anatomie des Reizleitungssystems des Herzens.
Pflügers Archiv Bd. 56. 1894. S. 273.
17. Grube. Über die kleinsten Moleküle, welche die Leber zur Synthese verwenden kann.
Pflügers Archiv Bd. 121. 1908. S. 636.
18. Hagedorn-Jensen. Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Kaliumferricyanid.
Biochem. Zeitschrift Bd. 135. 1923. S. 46.
19. Heiderich. Das Glykogen des Magen-Oberflächenepithels.
Anat. Anzeiger Bd. 46. 1914. Ergänzungsband S. 85.
20. His jun. Arbeiten aus der mediz. Klinik zu Leipzig. 1893. S. 14.
21. Holl. Makrosk. Darstellung des atrioventrikul. Bündels am menschlichen und Säugetierherzen.
Denkschrift der mathematisch-naturw. Klasse der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Bd. 87. 1911. S. 269.
22. Kan Kato. Beitrag zur Frage des mikrochem. Nachweises des Glykogens.
Archiv der gesamten Physiologie Bd. 127. 1909. S. 125.
23. Keith und Flack. The form and nature of the muscular connections between the primary divisions of the vertebrate heart.
Journal of Anat. and Physiol. Bd. 41. 1907. S. 172.
24. Kimura. Morphol. Studies on the Occurence and Distribution of Glykogen in various Members of the Animal Kingdom.
Reprinted from Transactiones Societatis Pathologicae Japonicae. Liber 24. 1934. S. 593.
25. Koch. Der funktionelle Bau des menschl. Herzens.
Urban und Schwarzenberg. Berlin 1922.
26. Derselbe. Topographie des Reizleitungssystems.
Zentralblatt für Physiologie Bd. 26. 1913. S. 1248.
27. Klestadt. Über Glykogenablagerung.
Ergebnisse der allg. Pathol. und pathol. Anat. Bd. 15. 1911. S. 345.
28. Külbs. Das Reizleitungssystem im Herzen.
Julius Springer. Berlin 1933.
29. Derselbe. Vergleichende Anatomie und Histologie des His'schen Bündels.
Mediz. Klinik. Heft 31. 1912.

30. Külz. Beiträge zur Kenntnis des Glykogens.
Pflügers Archiv. Bd. 24. 1881. S. 45.
31. La Franca. La Glykogène de l'appareil spec. du coeur dans ses rapports avec la fonction cardiaque.
Deux. communication: le system de transmission atrio-ventriculaire.
Archiv intern. Physiol. Bd. 17. 1922. S. 266.
32. Langhans. Glykogenfärbung mittels Lugol'scher Lösung.
Virchows Archiv Bd. 120. 1890. S. 28.
33. Marchand. Über eine Geschwulst aus quergestr. Muskelfasern nebst Bemerkungen über das Glykogen in einigen foetalen Geweben.
Virchows Archiv Bd. 100. 1885. S. 42.
34. Matsumori. Über die Verbreitung des Glykogens im Rinderherzen.
Journal of Biochem. Bd. 11. 1929. S. 219.
Referiert in den Berichten über die gesamte Physiologie. Bd. 54. 1934. S. 646.
36. Mangold. Die Erregungsleitung im Wirbeltierherzen.
Sammlung physiol. und anat. Vorträge. Heft 25. Fischer, Jena 1914.
36. Mayer. Zur Färbung des Glykogens.
Zeitschrift für wissensch. Mikroskopie. Bd. 26. 1909. S. 513.
37. Mönckeberg. Untersuchungen über das Atrioventrikularbündel im menschl. Herzen.
Fischer, Jena 1908.
38. Derselbe. Das spezif. Muskelsystem im menschl. Herzen.
Ergebnisse der Pathologie. Bd. 19. 1921. S. 328.
39. Derselbe. Der funktionelle Bau des Säugetierherzens.
Handbuch normaler und pathol. Physiologie. Bd. 1. 1926. S. 85.
40. Münzer. Über Darstellung und Vorkommen von Glykogen im Nervensystem.
Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie. Bd. 112. 1928. S. 288.
41. Nielsen. Histochem. Darstellung des Glykogens.
Vergleich mit der mikrochem. Bestimmung. Verbesserung der Jodfärbung.
Acta pathol. scand. Bd. 9. 1932. S. 258.
42. Neukirch. Über morphol. Untersuchungen des Muskelglykogens und eine neue Art der Fixation.
Zentralblatt für klin. Medizin. Bd. 70. 1910. S. 251.
43. Noll und Becker. Der Glykogengehalt der Muskulatur und des Erregungsleitungssystems des Herzens nach chem. und mikrosk. Untersuchungen.
Virchows Archiv Bd. 296. 1935. S. 443.

44. Patzelt. Über Glykogen- und Schleimfärbung mit Best'schem Karmin.
Wiener klin. Wochenschrift Nr. 16. 1928. S. 24.
45. Petersen. Makroskop. Darstellung des Atrioventrikularbündels im Herzen des Pferdes.
Archiv für wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde. Bd. 44. 1918. S. 97.
46. Pflüger. Glykogen.
Pflügers Archiv. Bd. 96. 1903. S. 376.
47. Retzer. Über die muskul. Verbindung zwischen Vorhof und Ventrikel des Säugetierherzens.
Archiv für Anatomie und Entw. Bd. 78. 1904. S. 223.
48. Romieu. Une réaction histochimique nouvelle des lécithines, la réaction iodophile.
Cpt. rend. de la société des Biol. Bd. 96. 1927. S. 1230.
49. Romeis. Taschenbuch der mikrok. Technik.
Böhme und Oppel. München und Berlin 1932.
50. Sabalitschka. Amylase.
Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden. Abt. IV. Heft 10. 1936. S. 78.
51. Salkowsky. Kleine Mitteilungen physiologisch-chemischen Inhaltes.
Pflügers Archiv. Bd. 56. 1894. S. 352.
52. Schauder. Makroskopische Darstellung des atrioventrikulären Verbindungsbündels im Herzen des Pferdes.
Archiv für wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde. Bd. 44. 1918. S. 372.
53. Tanaka. Untersuchungen über das Glykogen im Gehörorgan.
Tokio 1929.
54. Tandler. Anatomie des Herzens.
Fischer, Jena 1913.
55. Tawara. Das Reizleitungssystem des Säugetierherzens.
Fischer, Jena 1906.
56. Thorel. Aufbau des Sinusknotens und seine Verbindung mit der Cava sup. und dem Wenckebach'schen Bündel.
Deutsche Mediz. Wochenschrift. 1910. S. 279.
57. Ungar. Zur Anatomie des spezifischen Muskelsystems im menschlichen Herzen.
Lotos Bd. 72. 1924. S. 209.
58. Vorhoeve. Glykogenkleuring volgens Vastarini-Cresi.
Nederl. Tijdschr. Geneesk. Bd. 68. 1924. S. 174.
59. Yamazaki. Biochemical studies on the auriculoventricular junctional system of heart. I. The Glykogen content.
Journal of Biochem. Bd. 10. 1929. S. 481.
Referiert in den Berichten über die gesamte Physiologie. Bd. 52. 1929. S. 612.

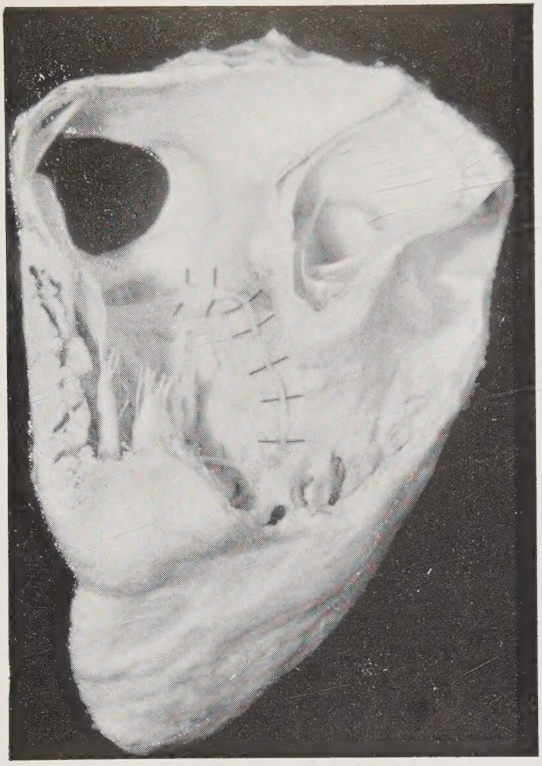


Abbildung 1

Mensch 4. Herz. Die Außenwand des rechten Vorhofes und der rechten Kammer ist abgetragen, die Art. pulmonalis eröffnet, die Aorta angeschnitten. Tawaraknoten, Crus commune und rechter Schenkel bis zum Uebertritt in das Moderatorband freigelegt.